

INFLUENCIA DEL CINa SOBRE
LA ULTRAESTRUCTURA DEL CORION
DE *DACUS OLEAE* GMEL.

(Dipt. Trypetidae)

POR

E. M. ROBLES-CHILLIDA, M. MUÑIZ y E. BLANCO-MARCO

Publicado en "GRAELLSIA", REVISTA DE ENTOMÓLOGOS IBÉRICOS
(Tomo XXV, págs. 325-333)

30 diciembre 1970

INSTITUTO ESPAÑOL DE ENTOMOLOGÍA
MADRID

INFLUENCIA DEL ClNa SOBRE LA ULTRAESTRUCTURA DEL CORION DE *DACUS OLEAE* GMEL.

(DIPT. TRYPETIDAE)

POR

E. M. ROBLES-CHILLIDA, M. MUÑIZ y E. BLANCO-MARCO

INTRODUCCIÓN.

La importancia que para la economía nacional tiene el díptero *Dacus oleae* Gmel., junto con la aparición de las nuevas técnicas de control biogenético, han hecho una necesidad el desarrollo del cultivo masivo de este insecto (Rey, 1970 a). Con tal fin, diversos autores (Hagen et al., 1963; Tzanakakis, 1967; Rey, 1970 b) han ido desarrollando diversas dietas para el cultivo larvario de la mosca del olivo. Una característica común a todas las dietas la constituye su toxicidad a los huevos antes de su desarrollo embrionario. Las causas de la mortalidad pueden ser: la toxicidad inherente de algunos de los productos químicos usados en la dieta o sus propiedades fisico-químicas.

Entre las últimas propiedades, Muñiz (1970) realizó estudios sobre el efecto de la presión osmótica. Sus resultados muestran que la presión osmótica por sí misma no afecta al desarrollo del huevo. Sin embargo, la presencia de electrolitos (ClNa al 4 %) causan una mortalidad total de los huevos. Dado que esta mortalidad puede ser causada por cambios en la estructura del corion, se ha realizado el presente estudio, examinándolo al microscopio electrónico. Estudios sobre la estructura de la cutícula de los huevos de insectos han sido publicados por diversos autores y revisados detalladamente por Richards (1951); una revisión más moderna ha sido realizada por Hinton (1969), principalmente basada en sus propios trabajos, usando un microscopio electrónico de "Scanning". A estos autores nos referimos en el texto.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Los huevos de *Dacus oleae* Gmel. se recogieron con unas cuatro horas de edad lavándolos con agua destilada y filtrándolos utilizando

un embudo de Büchner adaptado a un matraz con tubuladura lateral unido a una trompa de vacío; posteriormente se transportan a una cápsula Petri, de unos cuatro centímetros de diámetro, sobre un disco de tela negra, para ofrecer el contraste necesario. Con el fin de evitar pérdidas de humedad, estas cápsulas se introdujeron en otra de mayor diámetro con agua, manteniéndose el sistema en una cámara a 25° C.

Se utilizaron tres series de 10 huevos cada una:

- A) Huevos con cuatro horas de edad — en agua.
- B) Huevos con cuarenta y ocho horas de edad — en agua.
- C) Huevos con cuarenta y ocho horas de edad — en 1.5 mililitros de disolución de CNa al 4 %.

Posteriormente, los ejemplares de cada una de las tres series fueron colocados en diferentes portas excavados y fijados en una solución de tetróxido de osmio en tampón Palade 0.2 M. Fue disuelta una ampolla de 0.1 gramo de ácido ósmico, en 10 mililitros de tampón, con lo que la disolución resultante tuvo una concentración en tetróxido de osmio del 1 %. El tiempo de fijación fue de dos horas a 4° C. El pH empleado fue de 6.9.

Posteriormente, cada serie de huevos fue lavada durante cinco minutos con acetona al 50 % y, a continuación, cada ejemplar de las tres series fue englobado en una gota de agar-agar; de esta forma se eliminan, al menos en parte, las dificultades de manipulación que tienen lugar debido al pequeño tamaño del material en estudio.

La deshidratación fue realizada mediante acetona a distintas concentraciones. Para la inclusión se utilizó una mezcla de resinas sintéticas "Durcupán".

Los cortes fueron efectuados a 200 micras de la zona de eclosión, en ultramicrotomo L. K. B., siendo los estudiados los comprendidos entre 700-900 Å. La observación se realizó con el microscopio Siemens Elmiskop I. del Centro de Investigaciones Biológicas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, así como en el microscopio Philips E. M. 300 del citado organismo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Las figuras 1 y 2 presentan el aspecto de la cutícula a 6.840 aumentos, vista panorámica, y 23.940 aumentos, vista en detalle, respectivamente, de huevos de la serie A, es decir, de puesta reciente. El grosor

de la cutícula es del orden de un medio de micra, unas 40 veces menor que el descrito por Beament (Richards, 1951) en *Rhodnius* e igualmente mucho menor que las variadas estructuras descritas por Hinton (1969) para numerosos insectos. Igualmente su estructura es mucho más simple que la indicada en las revisiones mencionadas. A

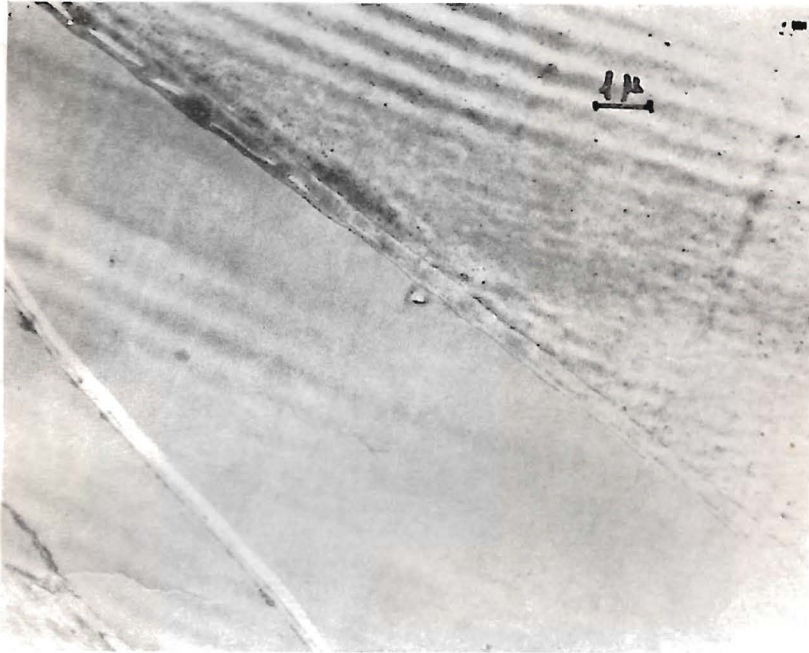


Fig. 1.—Corion de *Dacus oleae* Gmel., recién puesto ($\times 6.840$).

lo más se puede distinguir una finísima película discontinua externa, una capa que constituye la masa principal y otra finísima película interna continua. Dentro de la masa intermedia se observan unas cavidades alargadas que pueden ejercer la función de *Plastrones* (Hinton, 1969) y ser responsables del intercambio gaseoso necesario para la respiración del huevo. Sin embargo, a pesar del alto poder de resolución empleado, superior al de Hinton, no se observa que estas cavidades se encuentren en contacto ni con el exterior ni con el interior del huevo. Lo que no excluye su posibilidad de acuerdo con el mismo Hinton, ya

que la malla que constituye la superficie interna del corion “aparece sólida a todo, excepto a las más altas resoluciones del microscopio electrónico”.

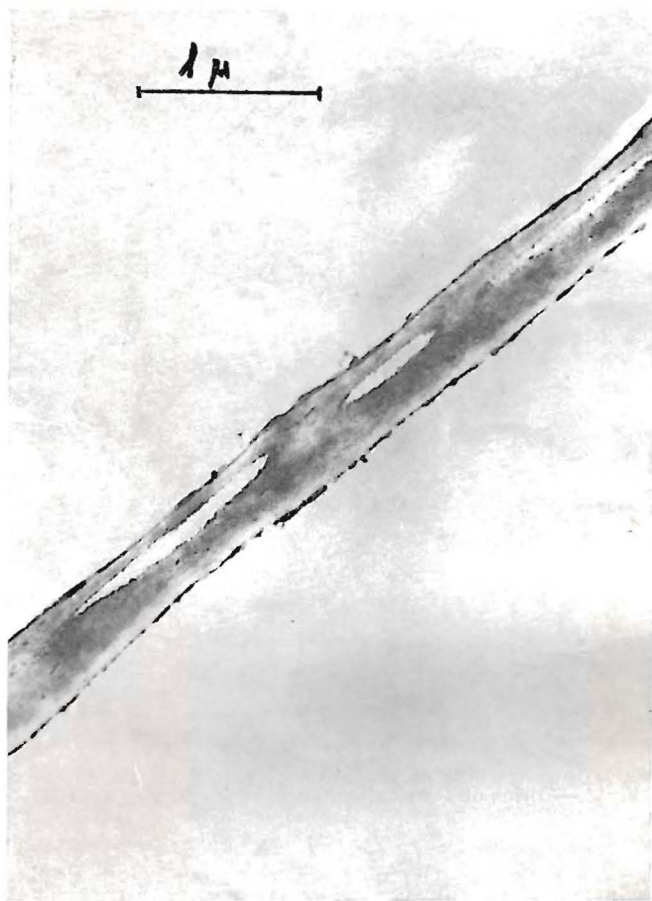


Fig. 2.—Corion de *Dacus olivaceus* Gmel., recién puesto ($\times 23,900$).

En las figuras 3 y 4 se muestra el aspecto del corion después de cuarenta y ocho horas de incubación a 6.840 y 23.940 aumentos, respectivamente. En ellas se aprecia que las cavidades han engordado, adoptando una forma elipsoidal. La capa intermedia que constituye la masa

principal toma una apariencia más heterogénea, apreciándose zonas de mayor condensación de material y otras menos densas.

En la serie de huevos mantenida cuarenta y ocho horas en incuba-



Fig. 3.—Corion de *Dacus oleae* Gmel. después de cuarenta y ocho horas de incubación en agua destilada a 25° C. ($\times 6.840$).

ción en solución de ClNa al 4 %, el corion adquiere el aspecto que muestran las figuras 5 y 6 a 6.840 y 23.940 aumentos, respectivamente. En la zona intermedia puede verse la misma heterogeneidad del material constitutivo que en el caso anterior. Las cavidades se han deformado por completo uniéndose unas con otras, y ya se observa en

algunos casos comunicación de estas estructuras con el interior del huevo y espacio exterior al mismo. Ambos tipos de alteración conjuntos no se observan en ninguno de los casos anteriores.



Fig. 4.—Corion de *Dacus olcae* Gmel. después de cuarenta y ocho horas de incubación en agua destilada ($\times 23.940$).

CONCLUSIONES.

Dado que es de suponer que las mencionadas cavidades actúen como *Plastrones*, su destrucción por la presencia del ClNa alterará el intercambio gaseoso. Así, una de las formas de acción tóxica de este electrolito podría ser por falta adecuada de oxígeno o exceso de carbónico



Fig. 5.—Corion de *Dacus oleae* Gmel. incubado durante cuarenta y ocho horas en solución de ClNa al 4 % a 25°C. ($\times 6.840$).

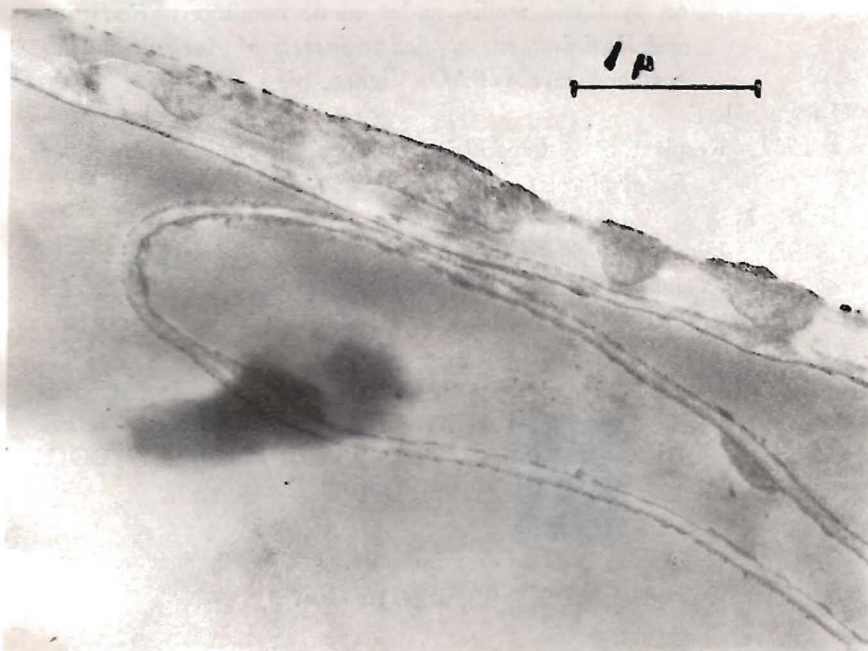


Fig. 6.—Corion de *Dacus oleae* Gmel. incubado durante cuarenta y ocho horas en solución de ClNa al 4 % a 25°C. ($\times 23.940$).

en el embrión. La disrupción del corion por la acción de la sal puede dar también lugar a la penetración en el huevo de agua y sustancias en solución creando un desequilibrio de tipo iónico u osmótico que impida el desarrollo embrionario, aunque la presión osmótica en sí misma no ejerza influencia sobre el huevo entero.

Los autores desean expresar su agradecimiento al Dr. J. M. Rey, promotor del presente trabajo por su ayuda en la redacción del mismo, así como al Dr. Rubio Huertos por las facilidades prestadas en todo momento para su realización.

SUMMARY.

The electron microscope shows modification of the olive fly chorion, when treated with a solution of 4 % NaCl. This alteration of the egg shell can affect the gas, water and solutes exchanges preventing the embryo development.

BIBLIOGRAFÍA

HAGEN, K. S., SANTAS, L., y TSCOURAS, A.

1963. A technique of culturing the olive fly *Dacus oleae* Gmel. on synthetic media under xenic conditions. *Radiation and Radioisotopes applied to insects of Agricultural importance*. IAEA/FAO, Vienna, págs. 333-356.

HINTON, H. E.

1969. Respiratory systems of insect egg shells. *Annual Review of Entomology*, t. XIV, págs. 343-368.

MUÑOZ, M.

1970. Latest investigations on the olive fly: Physiology. *Sterile male technique for control of fruit flies*. STI/PUB/276. IAEA, Vienna, págs. 144-147.

REY, J. M.

1970. Development of mass production techniques in the artificial rearing of the olive fly *Dacus oleae* Gmelin. *IAEA Research Contracts. Tenth Annual Report*, STI/DOC/105. IAEA, Vienna, págs. 96-97.

REY, J. M.

1970. Development of a diet for rearing olive fly larvae. *Entomophaga*, t. XV (2), págs. 157-167.

RICHARDS, A. G.

1951. Eggs shells. *The Integument of Arthropods*, Minneapolis, págs. 279-282.

TZANAKAKIS, M. E.

1967. Control of the olive fruit fly *Dacus oleae* Gmel. with radiation or chemical sterilization procedures. *U. S. D. A. Grant Fly-GR-102*, pág. 81.